

**Penentuan kadar tetrasiklin, oksitetrasiklin, dan
klortetrasiklin pada ikan dengan metode *liquid
chromatography tandem mass spectrometry*
(LC-MS/MS)**



© BSN 2015

Hak cipta dilindungi undang-undang. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh isi dokumen ini dengan cara dan dalam bentuk apapun serta dilarang mendistribusikan dokumen ini baik secara elektronik maupun tercetak tanpa izin tertulis dari BSN

BSN
Email: dokinfo@bsn.go.id
www.bsn.go.id

Diterbitkan di Jakarta

Daftar Isi

Daftar Isi	i
Prakata	ii
1 Ruang lingkup	1
2 Istilah dan definisi	1
3 Prinsip umum	2
4 Peralatan	2
5 Bahan	2
6 Prosedur	3
7 Perhitungan	5
8 Identifikasi	6
9 Konfirmasi	6
10 Kuantifikasi	7
11 Pelaporan	7
12 Jaminan mutu	8
13 Keamanan dan keselamatan kerja	8
Lampiran A	9
Lampiran B	11
Bibliografi	13

Prakata

Dalam rangka keberlanjutan usaha budidaya, meningkatkan produktivitas, dan memberikan jaminan mutu komoditas perikanan serta memberikan hasil uji yang akurat bagi setiap pengujian di laboratorium acuan dan uji, maka perlu disusun suatu Standar Nasional Indonesia (SNI) tentang penentuan kadar tetrasiklin, oksitetrasiklin, dan klortetrasiklin pada ikan dengan metode *liquid chromatography tandem mass spectrometry* (LC-MS/MS).

Standar ini dirumuskan Panitia Teknis (PT) 65-07 Perikanan Budidaya dan dibahas dalam rapat konsensus pada tanggal 23 – 25 Juni 2014 di Bogor yang dihadiri oleh anggota panitia teknis, unsur pemerintah, lembaga penelitian dan instansi terkait lainnya dengan memperhatikan :

1. Peraturan Menteri Kelautan dan Perikanan RI No. PER.19/Men/2010 tentang Pengendalian Sistem Jaminan Mutu dan Keamanan Hasil Pangan.
2. Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan RI. No.Kep.06/Men/2002 tentang Persyaratan dan Tata Cara Pemeriksaan Mutu Hasil Perikanan yang Masuk ke Wilayah Republik Indonesia.
3. Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan RI. No.Kep.01/Men/2002 tentang Sistem Manajemen Mutu Terpadu Hasil Perikanan.
4. Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan RI. No.Kep.21/Men/2004 tentang Sistem Pengawasan dan Pengendalian Mutu Hasil Perikanan untuk Pasar Uni Eropa.
5. Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan RI. No. Kep. 01/Men/2007 tentang Persyaratan Jaminan Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Pada Proses Produksi, Pengolahan dan Distribusi.
6. Peraturan Menteri Kelautan dan Perikanan RI. No.Per.02/Men/2007 tentang Monitoring Residu Obat, Bahan Kimia, Bahan Biologis dan Pencemaran Pada Pembudidayaan Ikan.
7. Keputusan Direktur Jenderal Perikanan Budidaya No. No. 06/DPB/HK.150/S4/VII/2007 tentang Pedoman Pelaksanaan Monitoring Residu Obat, Bahan Kimia, Bahan Biologi.
8. Keputusan Direktur Jenderal Perikanan Budidaya No. 61/KEP-DJPB/2013 tentang Batas maksimum Residu Pada Komoditi Ikan.

Standar ini telah dilakukan jajak pendapat pada tanggal 30 Agustus 2014 sampai dengan 29 Oktober 2014 dengan hasil akhir RASNI.

Penentuan kadar tetrasiklin, oksitetrasiklin, dan klortetrasiklin pada ikan dengan metode *liquid chromatography tandem mass spectrometry* (LC-MS/MS)

1 Ruang lingkup

Standar ini menetapkan metode penentuan kadar tetrasiklin, oksitetrasiklin, dan klortetrasiklin pada ikan dengan menggunakan metode *liquid chromatography tandem mass spectrometry* (LC-MS/MS).

2 Istilah dan definisi

Untuk tujuan penggunaan dalam dokumen ini, istilah dan definisi berikut digunakan :

2.1

air ultra murni

air yang mempunyai kualifikasi daya resistensi $\geq 18 \text{ M}\Omega/\text{cm}$ dan total organik karbon lebih kecil dari $10 \mu\text{g/l}$

2.2

contoh uji ikan

sejumlah kecil dari suatu populasi (ikan nila, bandeng, lele, patin dan udang merupakan contoh uji ikan yang sudah divalidasi), yang digunakan untuk pemeriksaan dan memenuhi persyaratan secara statistika

2.3

***liquid chromatography tandem mass spectrometry* (LC-MS/MS)**

teknik analisis secara kualitatif dan kuantitatif yang terdiri dari dua bagian yaitu *liquid chromatography* yang berfungsi melakukan pemisahan contoh dan *mass spectrometry* yang berfungsi untuk mendeteksi senyawa yang masuk dari sistem *liquid chromatography* berdasarkan perbandingan massa terhadap muatan

2.4

larutan standar kerja

larutan standar yang ditambahkan ke dalam blangko contoh untuk mendapatkan kurva kalibrasi

2.5

rasio ion

perbandingan area produk ion intensitas rendah terhadap area produk ion intensitas tinggi dari analit

2.6

respons faktor

perbandingan antara area produk ion suatu senyawa dengan area produk ion standar internal

2.7

standar internal

senyawa kimia mirip dengan senyawa analit dan ditambahkan dalam jumlah sama ke dalam semua contoh uji dan standar uji, dalam standar ini digunakan demeklosiklin

2.8

supernatan

cairan hasil sentrifugasi

2.9

waktuambat (*Retention Time*/ t_R)

waktu yang diperlukan analit selama tertahan dalam kolom sampai keluar sebagai puncak kromatogram dihitung dari waktu injeksi

3 Prinsip umum

Pengukuran ini menggunakan teknik kalibrasi berbasis matrik. Contoh uji di ekstrak dengan pelarut, kemudian melakukan filtrasi, dilanjutkan dengan menginjektikan ke LC-MS/MS untuk mendapatkan kadar analit dalam contoh uji.

4 Peralatan

- a) unit LC-MS/MS
- b) blender;
- c) *freezer* - 20 °C;
- d) lemari asam;
- e) mikropipet berbagai ukuran 10 μ l – 10 000 μ l;
- f) *mini mixer/shaker*;
- g) peralatan gelas (labu ukur dan *beaker glass*);
- h) *refrigerated centrifuge* 4 025 xg (6 000 rpm);
- i) timbangan analitik dengan ketelitian 0,0001 g;
- j) timbangan dengan ketelitian 0,01 g;

5 Bahan

- a) *acetonitrile* LC-grade¹;
- b) air ultra murni;
- c) asam formiat (kemurnian 98%-100 %);
- d) *disodium ethylene diamine tetraacetic acid* (Na₂EDTA);
- e) standar internal;
- f) standar klortetrasiklin;
- g) standar oksitetrasiklin;
- h) standar tetrasiklin;
- i) metanol LC-grade;
- j) penyaring PVDF 0,2 μ m;
- k) *syringe* 1 ml;
- l) tabung sentrifus bertutup kapasitas 50 ml;
- m) *vial* contoh uji.

¹ *Acetonitrile* adalah contoh larutan pengestrak yang tervalidasi metode uji ini, tapi tidak menutup kemungkinan menggunakan pelarut lain dengan melakukan validasi terlebih dahulu

6 Prosedur

6.1 Preparasi contoh uji

- lumatkan contoh uji dengan blender hingga homogen;
- simpan contoh uji yang telah homogen pada wadah yang bersih dan tertutup;
- jika contoh uji tidak langsung diuji maka simpan dalam *freezer* sampai analisis akan dilakukan.

6.2 Ekstraksi

6.2.1 Ekstraksi matriks

- timbang ($3,00 \pm 0,01$) g homogenat blangko contoh ke dalam tabung sentrifus 50 ml dan tutup dinding tabung dengan aluminium *foil* untuk menghindari paparan cahaya;
- tambahkan dengan 50 μ l larutan standar kerja demeklosiklin menggunakan mikropipet;
- tambahkan dengan larutan standar kerja campuran tetrasiklin, oksitetrasiklin dan klortetrasiklin dan diamkan selama 30 menit;
- tambahkan Na_2EDTA 0,1 M dan acetonitrile sesuai dengan tabel 1:

Tabel 1 Penambahan larutan standar kerja campuran

Kode standar	Standar kerja campuran yang ditambahkan (μ l)	Na_2EDTA 0,1 M (μ l)	Acetonitrile (μ l)	Konsentrasi dalam contoh (μ g/kg)	Konsentrasi dalam vial (μ g/l)
0	0	200	9 750	0	0
1	25	200	9 725	41,67	12,50
2	50	200	9 700	83,33	25,00
3	100	200	9 650	166,67	50,00
4	200	200	9 550	333,33	100,00

- homogenkan campuran dengan menggunakan *minimixer* selama 30 detik dan dikocok selama 5 menit;
- sentrifugasi campuran selama 10 menit dengan kecepatan minimal 6 000 rpm, dengan suhu maksimal 4 °C;
- ambil supernatan, pastikan lapisan minyak tidak terambil;
- saring melalui penyaring PVDF 0,2 μ m ke dalam vial.

6.2.2 Ekstraksi kontrol positif

- timbang ($3,00 \pm 0,01$) g blangko contoh ke dalam tabung sentrifus 50 ml dan tutup dinding tabung dengan aluminium *foil* untuk menghindari paparan cahaya;
- tambahkan dengan 50 μ l larutan standar kerja demeklosiklin menggunakan mikropipet;
- tambahkan dengan 50 μ l larutan standar kerja campuran tetrasiklin, oksitetrasiklin dan klortetrasiklin;
- tambahkan 200 μ l larutan Na_2EDTA 0,1 M menggunakan mikropipet;
- tambahkan 9 700 μ l *acetonitrile* menggunakan mikropipet 10 000 μ l;
- homogenkan campuran dengan menggunakan *minimixer* selama 30 detik dan dikocok selama 5 menit;
- sentrifugasi campuran selama 10 menit dengan kecepatan 6 000 rpm;
- ambil supernatan, pastikan lapisan minyak tidak terambil;
- saring melalui penyaring PVDF 0,2 μ m ke dalam vial.

6.2.3 Ekstraksi contoh uji

- timbang ($3,00 \pm 0,01$) g homogenat contoh uji ke dalam tabung sentrifus 50 ml dan tutup dinding tabung dengan aluminium foil untuk menghindari paparan cahaya;
- tambahkan dengan 50 μ l larutan standar kerja demeklosiklin menggunakan mikropipet;
- tambahkan dengan larutan standar kerja campuran tetrasiklin, oksitetrasiklin dan klortetrasiklin;
- tambahkan 200 μ l larutan Na_2EDTA 0,1 M menggunakan mikropipet;
- tambahkan 9 750 μ l *acetonitrile* menggunakan mikropipet 10 000 μ l;
- homogenkan campuran dengan menggunakan *minimixer* selama 30 detik dan dikocok selama 5 menit;
- sentrifugasi campuran selama 10 menit dengan kecepatan 6 000 rpm;
- ambil supernatan, pastikan lapisan minyak tidak terambil;
- saring melalui penyaring PVDF 0,2 μ m ke dalam *vial*.

6.3 Kondisi operasi LC-MS/MS

Kondisi operasi LC-MS/MS dibawah ini :

a) Kondisi LC²

- Kolom : C18 untuk kondisi yang polar 1,8 μ m; 2,1 x 100 mm
- Laju alir : 0,53 ml/menit
- Volume injeksi : 2 μ l
- Suhu kolom : 40 °C
- Suhu contoh : 15 °C
- Fase Gerak : A = Larutan asam formiat 0,1%
B = *Acetonitrile*
Komposisi gradien sesuai Tabel 2

Tabel 2 Komposisi gradien fase gerak

Waktu (menit)	Fase Gerak A (%)	Fase Gerak B (%)
Initial	90	10
1,19	90	10
1,70	90	10
3,97	50	50
4,00	10	90
4,10	90	10
6,00	90	10

b) Kondisi MS/MS³

- Mode ionisasi : ESI, positif
- Source temp.* : 120 °C
- Desolvation temp.* : 500 °C
- Cone gas flow* : 50 l/jam
- Desolvation gas flow-rate* : 1 000 l/jam

² Kinerja setara dapat juga dicapai menggunakan kondisi operasi LC selain yang ditentukan diatas dan sudah divalidasi

³ Kinerja setara dapat juga dicapai menggunakan kondisi operasi MS/MS selain yang ditentukan diatas dan sudah divalidasi

Tabel 3 Kondisi akuisisi *multiple reaction monitoring* analit pada detektor MS/MS

Analit	Ion Prekursor	Ion Produk	Capillary (kV)	Cone (V)	Collision (V)
Tetrasiklin	445	410 * 154 **	3,5	28	19 30
Oksitetrasiklin	461	426 * 443 **	3,5	28	18 13
Klortetrasiklin	479	444 * 462 **	3,5	28	20 17
Demeklosiklin	465	448 * 154 **	3,0	30	20 30
Keterangan * Ion produk dengan intensitas tinggi (kuantifikasi) ** Ion produk dengan intensitas rendah (identifikasi)					

CATATAN Optimasi untuk masing-masing LC-MS/MS diperlukan untuk mendapatkan kromatogram optimal dari masing-masing analit.

6.4 Tahapan injeksi

Tahapan injeksi pada sistem LC-MS/MS sebagai berikut:

1. Standar 2
2. Standar 2
3. Standar 2
4. Standar 0
5. Standar 1
6. Standar 2
7. Standar 3
8. Standar 4
9. Standar 0
10. Kontrol positif
11. Contoh 1
12. Contoh 2
13. Dst maks 20 contoh
14. Reinjeksi standar 2
15. Larutan standar 2 tanpa matrik

7 Perhitungan

Sebelum melakukan konfirmasi dan kuantifikasi, terlebih dahulu dikumpulkan data t_R dan area kromatogram masing-masing ion dari senyawa analit sesuai Tabel 3. Selanjutnya dihitung relatif t_R , deviasi relatif t_R (%), rasio ion, deviasi rasio ion (%) dan repons faktor dari masing-masing analit.

$$\text{Ion Rasio (R)} = \frac{A_{\text{ion rendah}}}{A_{\text{ion tinggi}}}$$

Keterangan :

A ion rendah = area dari ion pecahan/produk dengan intensitas rendah dari satu analit
A ion tinggi = area dari ion pecahan/produk dengan intensitas tinggi dari satu analit

$$\text{Deviasi Ion Rasio (\Delta R)} = \left| \frac{R_{\text{standar}} - R_{\text{contoh}}}{R_{\text{standar}}} \right| \times 100\%$$

Keterangan :

R contoh = rasio ion dari analit dalam contoh
R standar = rasio ion dari analit dalam standar

$$\text{Relatif } tR (RtR) = \frac{tR \text{ analit}}{tR \text{ internal standar}}$$

Keterangan :

t_R analit = waktuambat satu analit
 t_R internal standar = waktuambat internal standar

$$\text{Deviasi Relatif } tR (\Delta RtR) = \left| \frac{RtR \text{ contoh} - RtR \text{ standar}}{RtR \text{ standar}} \right| \times 100\%$$

Keterangan :

$R t_R$ contoh = waktuambat relatif dari analit dalam contoh
 $R t_R$ standar = waktuambat relatif dari analit dalam standar

$$\text{Respon Faktor (RF)} = \frac{\text{area ion analit}}{\text{area ion internal standar}}$$

Keterangan :

Area ion analit = area produk ion dengan intensitas tinggi dari satu analit
Area ion standar internal = area ion internal internal dengan intensitas tertinggi atau bebas interferensi

$$\text{rasio } S/N = \frac{\text{tinggi puncak kromatogram analit}}{\text{tinggi puncak noise}}$$

Keterangan :

S/N = Signal to Noise

8 Identifikasi

- deviasi waktuambat relatif maksimal 2,5%;
- semua produk ion dari masing-masing analit harus mempunyai rasio *signal to noise* ≥ 3 .

9 Konfirmasi

- semua produk ion dari masing-masing analit yang ditentukan (lihat tabel 3) harus ada;
- deviasi rasio ion antara contoh dengan standar harus memenuhi kriteria yang ditetapkan yaitu sebagai berikut pada Tabel 4:

Tabel 4 Kriteria deviasi rasio ion

Intensitas relatif (% <i>base peak</i>)	Deviasi rasio ion
>50%	±20%
>20% to 50%	±25%
>10% to 20%	±30%
≤10%	±50%

10 Kuantifikasi

Jumlah kandungan masing-masing analit ditentukan dengan persamaan kurva standar dari repons faktor terhadap konsentrasi dengan menggunakan persamaan :

$$RF = aX + b$$

$$X = \frac{RF - b}{a}$$

Keterangan :

- X = Konsentrasi analit dalam *vial* (µg/l)
 RF = Repons Faktor
 b = Intersep dari persamaan *linier spike*
 a = Slope dari persamaan *linier spike*

Jumlah kandungan analit dalam contoh dihitung dengan persamaan :

$$C = \frac{X \times V}{M}$$

Keterangan :

- C = Konsentrasi analit dalam contoh (µg/kg)
 X = Konsentrasi analit dalam *vial* (µg/l)
 V = Volume akhir contoh (ml)
 M = Massa contoh (g)

11 Pelaporan

- Jika nilai hasil uji yang didapat 3 (tiga) angka dibelakang koma, maka nilai yang dilaporkan 2 (dua) angka dibelakang koma
- angka desimal kurang dari 5 (lima) maka pembulatan ke bawah, tetapi bila lebih dari 5 (lima) pembulatan ke atas.

Contoh :

14,454 dibulatkan menjadi 14,45
 14,466 dibulatkan menjadi 14,47

- Jika angka ketiga dibelakang koma 5 (lima), dan angka kedua genap, maka angka lima tersebut menjadi hilang tetapi bila angka kedua ganjil maka pembulatan ke atas.

Contoh :

14,765 dibulatkan menjadi 14,76

14,475 dibulatkan menjadi 14,48

12 Jaminan mutu

12.1 Persyaratan ruang operasional peralatan

Operasional alat mengikuti ketentuan spesifikasi alat

12.2 Hasil pengujian

- verifikasi kurva kalibrasi dengan menghitung koefisien korelasi dan persen deviasi dari konsentrasi standar yang diperoleh dan konsentrasi standar berdasarkan perhitungan. Linieritas dan persen deviasi dihitung dari pengerjaan Standar 1 sampai dengan Standar 4 pada Tabel 1. Untuk linieritas, nilai koefisien korelasi $R \geq 0,995$. Sedangkan untuk persen deviasi dari masing-masing standar adalah $\leq 20\%$ untuk Standar 1, dan $\leq 10\%$ untuk Standar 2, 3, 4.
- verifikasi stabilitas rangkaian analisis dengan reinjeksi Standar 2 di akhir rangkaian. Pengujian dapat diterima apabila RSD dari repons faktor standar 2 dan reinjeksi Standar 2 $\leq 20\%$. Apabila RSD $\geq 20\%$ karena kenaikan repons sepanjang pengujian, maka seluruh standar dan contoh dengan hasil pengujian positif harus diinjeksi ulang. Apabila RSD $\geq 20\%$ karena penurunan repons sepanjang pengujian, maka seluruh seri pengujian harus diinjeksi ulang.
- verifikasi akurasi dengan menghitung persen perolehan kembali (*recovery*) dari pengerjaan Kontrol positif pada Tabel 1 dan dapat diterima bila berada pada rentang 80% - 110%.
- verifikasi ada atau tidaknya kontaminasi dan efek matrik dalam pengujian melalui injeksi blanko contoh antara standar dan kontrol positif.
- verifikasi sensitivitas instrumen dengan menghitung rasio signal/noise Standar 1 dan dapat diterima bila ≥ 3 .
- Uji kesesuaian sistem
Uji kesesuaian sistem dilakukan dengan cara menginjeksikan larutan Standar 2 sebanyak 3 ulangan injeksi. Hitung RSD repons faktor dan RSD waktuambat (maksimal 2,5%).
- duplo pengujian
RPD duplo dihitung dari pengujian duplo setiap batch/seri pengujian (1 batch = 10 sampel) maksimal 20%.

13 Keamanan dan keselamatan kerja

Untuk menjaga keamanan dan keselamatan kerja selama melakukan analisis maka perlu diperhatikan hal-hal sebagai berikut :

- cuci tangan sebelum dan sesudah melakukan analisis.
- gunakan alat pelindung diri (jas laboratorium, masker, dan kacamata laboratorium) selama bekerja.
- pastikan aliran gas ditutup kembali setelah selesai analisis.

Lampiran A (normatif) Pembuatan regensia

A.1 Larutan asam formiat 0,1%

Bahan :

- asam formiat (kemurnian 98%-100%)
- air ultra murni

Cara membuat :

Pipet 1 ml asam formiat dan masukkan ke dalam labu ukur 1 000 ml. Tambahkan dengan air ultra murni hingga tepat tanda tera dan dihomogenkan. Umur simpan larutan 1 (satu) minggu.

A.2 Larutan *disodium ethylene diamine tetraacetic acid* (Na₂EDTA) 0,1 M

Bahan :

- *disodium ethylene diamine tetraacetic acid* (Na₂EDTA)
- air ultra murni

Cara membuat :

Timbang 1,86 g Na₂EDTA, larutkan dengan air ultra murni dalam labu ukur 50 ml. Umur simpan larutan 1 (satu) bulan.

A.3 Larutan stok demeklosiklin⁴ 1 000 mg/l

Bahan :

- standar demeklosiklin
- metanol LC-*grade*

Cara membuat :

Timbang dengan seksama 100 mg standar, masukkan ke dalam labu ukur 100 ml, kemudian tepatkan dengan metanol. Simpan dalam botol gelap pada -20 °C.

A.4 Larutan standar kerja demeklosiklin 20 mg/l

Bahan :

- larutan stok demeklosiklin 1 000 mg/l
- metanol LC-*grade*

Cara membuat :

Pipet 1 000 µl larutan stok standar demeklosiklin 1 000 mg/l ke dalam labu ukur 50 ml, kemudian tepatkan dengan pelarut metanol. Simpan dalam botol gelap pada -20 °C.

⁴ Standar internal dapat menggunakan senyawa lain yang mirip dengan senyawa analit

A.5 Larutan stok tetrasiklin 1 000 mg/l

Bahan :

- standar tetrasiklin
- metanol LC-grade

Cara membuat :

Timbang dengan seksama 100 mg standar, masukkan ke dalam labu ukur 100 ml, kemudian tepatkan dengan metanol. Simpan dalam botol gelap pada -20 °C, umur simpan larutan 1 (satu) tahun.

A.6 Larutan stok oksitetrasiklin 1 000 mg/l

Bahan :

- standar oksitetrasiklin
- metanol LC-grade

Cara membuat :

Timbang dengan seksama 100 mg standar, masukkan ke dalam labu ukur 100 ml, kemudian tepatkan dengan metanol. Simpan dalam botol gelap pada -20 °C, umur simpan larutan 1 (satu) tahun.

A.7 Larutan stok klortetrasiklin 1 000 mg/l

Bahan :

- standar klortetrasiklin
- metanol LC-grade

Cara membuat :

Timbang dengan seksama 100 mg standar, masukkan ke dalam labu ukur 100 ml, kemudian tepatkan dengan metanol. Simpan dalam botol gelap pada -20 °C, umur simpan larutan 1 (satu) tahun.

A.8 Larutan standar kerja campuran tetrasiklin, oksitetrasiklin dan klortetrasiklin 5 mg/l

Bahan :

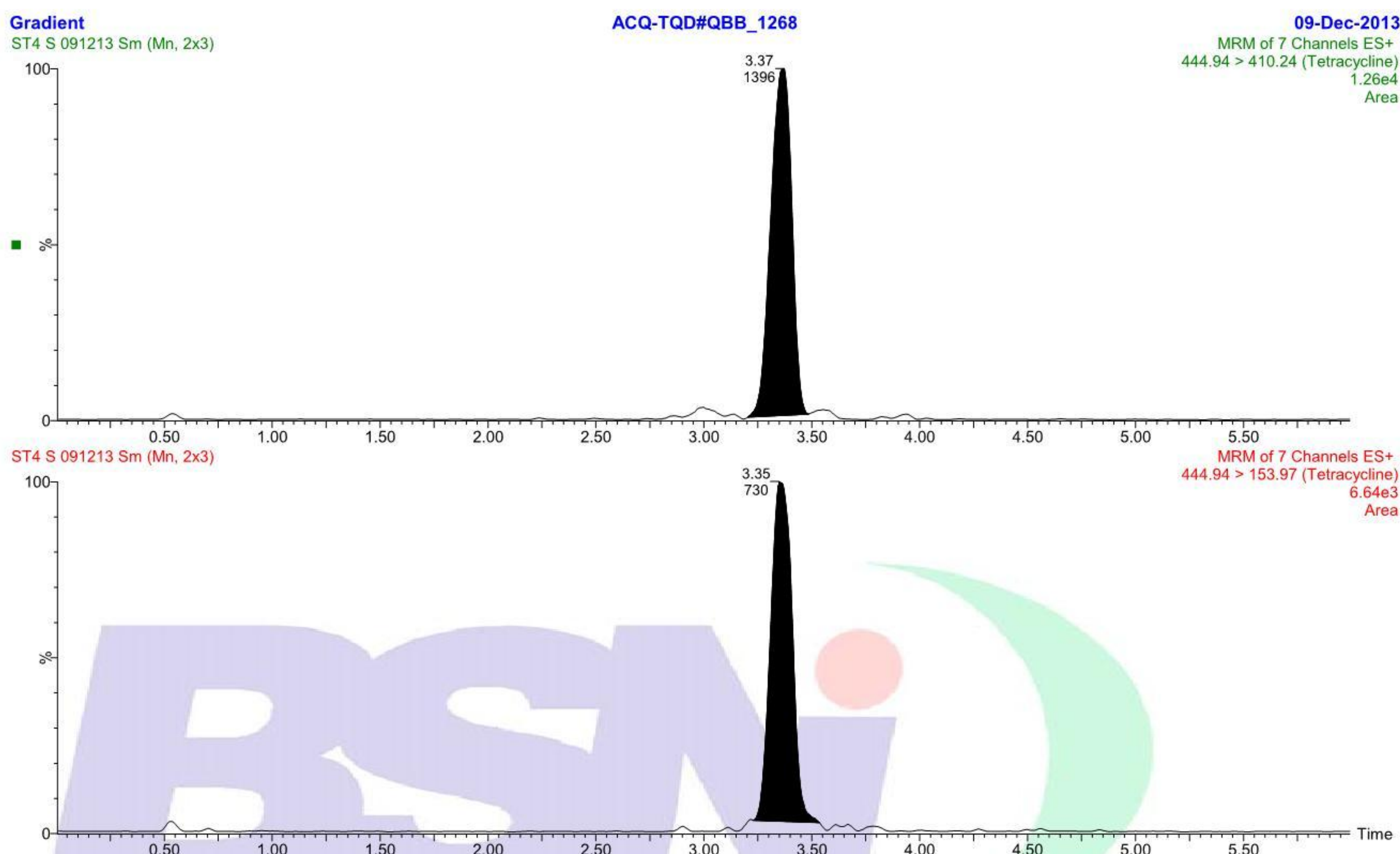
- larutan stok tetrasiklin 1 000 mg/l
- larutan stok oksitetrasiklin 1 000 mg/l
- larutan stok klortetrasiklin 1 000 mg/l
- metanol LC-grade

Cara membuat :

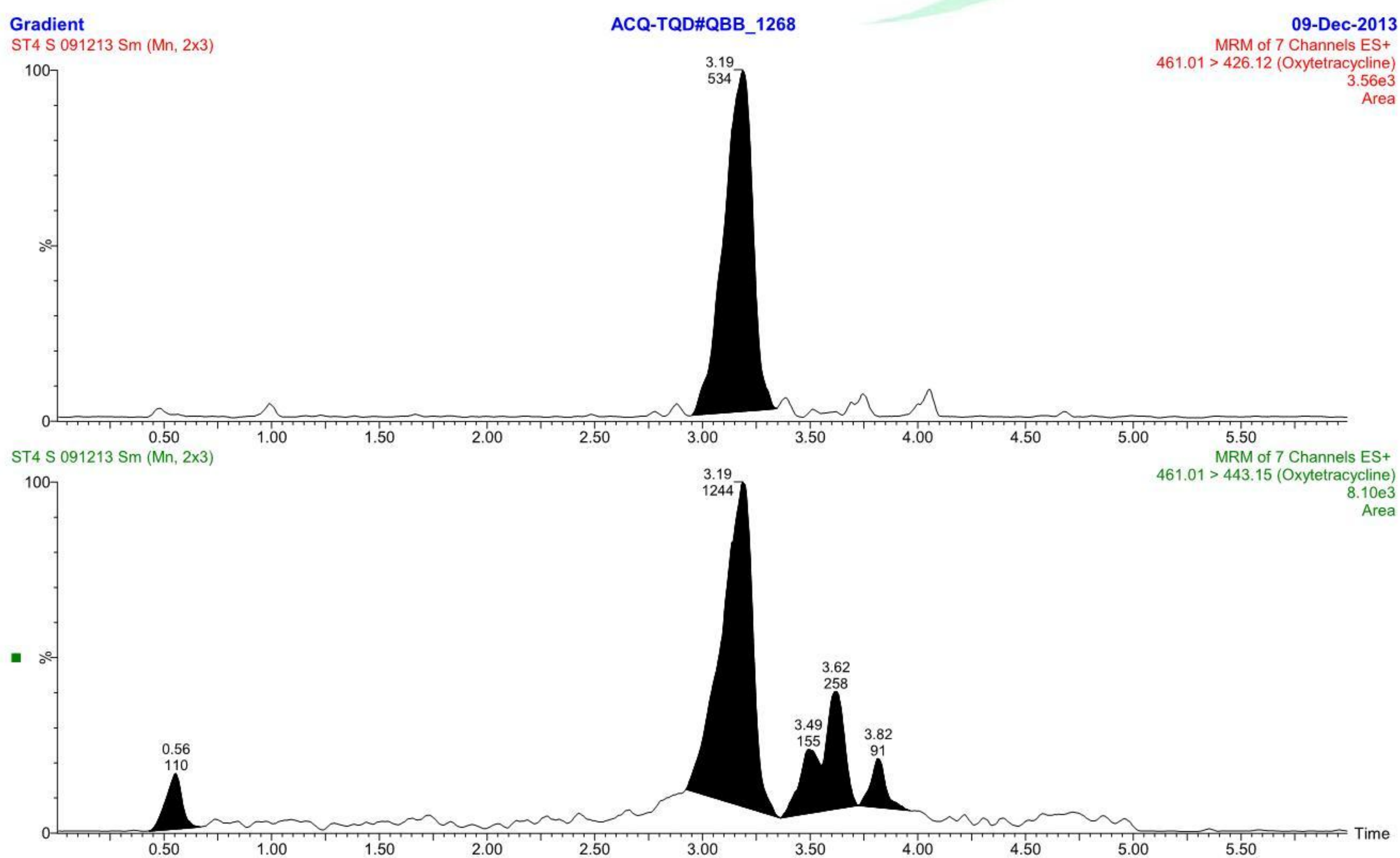
Pipet masing-masing 250 µl larutan stok tetrasiklin, oksitetrasiklin dan klortetrasiklin 1 000 mg/l, masukkan ke dalam labu ukur 50 ml, kemudian tepatkan dengan pelarut metanol. Simpan dalam botol gelap pada - 20°C, umur simpan larutan 1 (satu) bulan.

**Lampiran B
(informatif)**

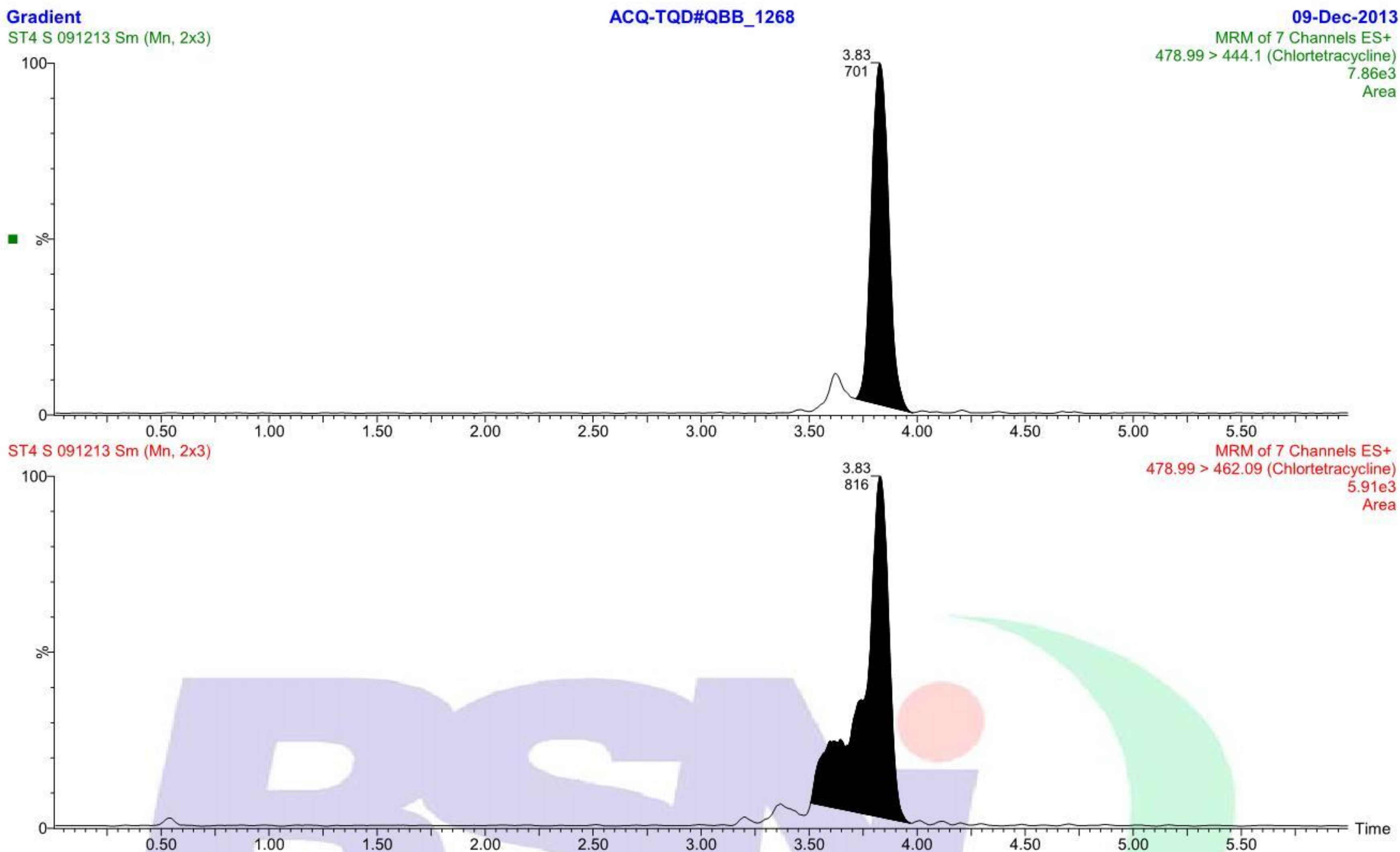
Kromatogram tetrasiklin, oksitetrasiklin, klortetrasiklin dan demeklosiklin



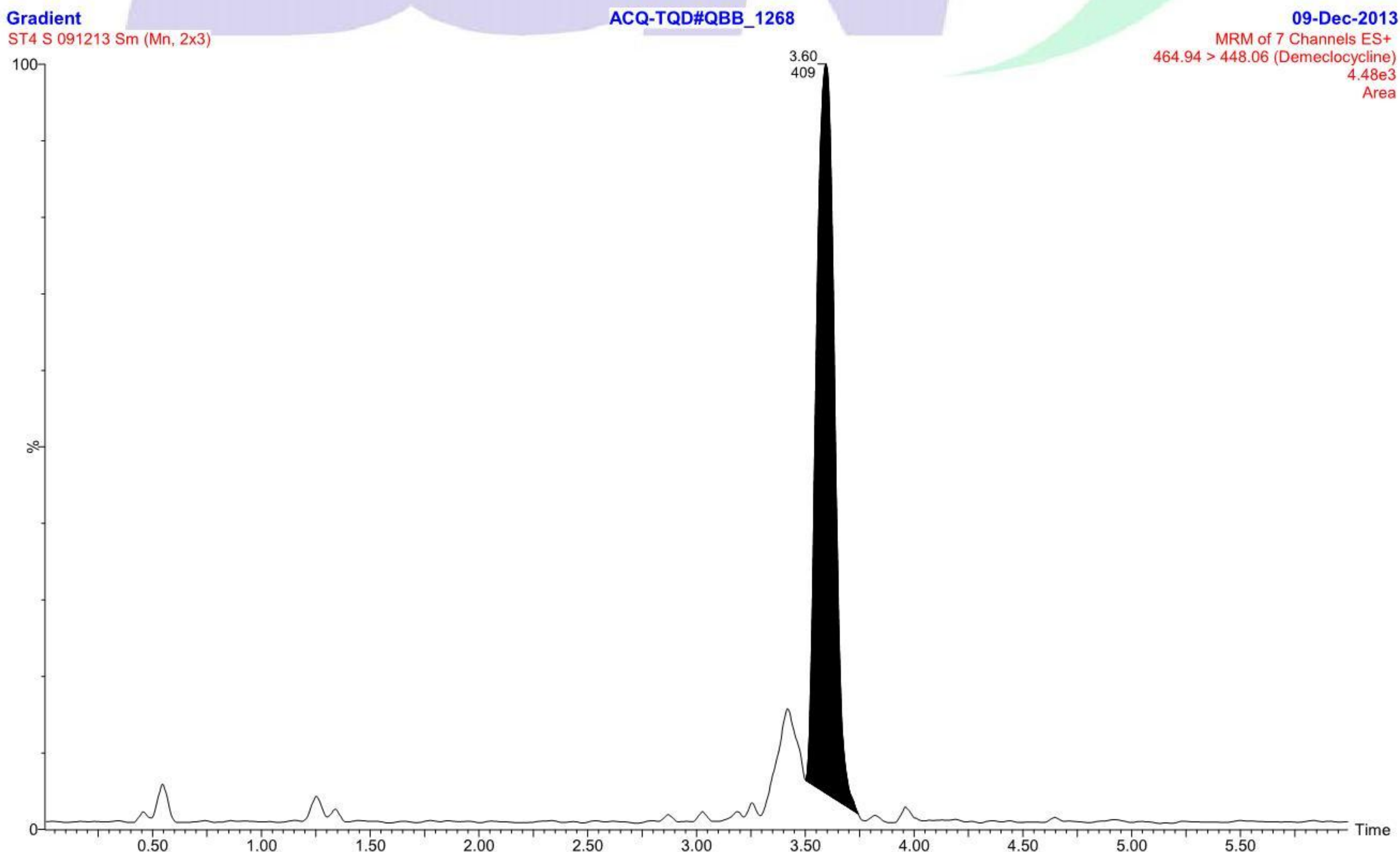
Gambar B.1 - Kromatogram tetrasiklin pada contoh uji udang



Gambar B.2 - Kromatogram oksitetrasiklin pada contoh uji udang

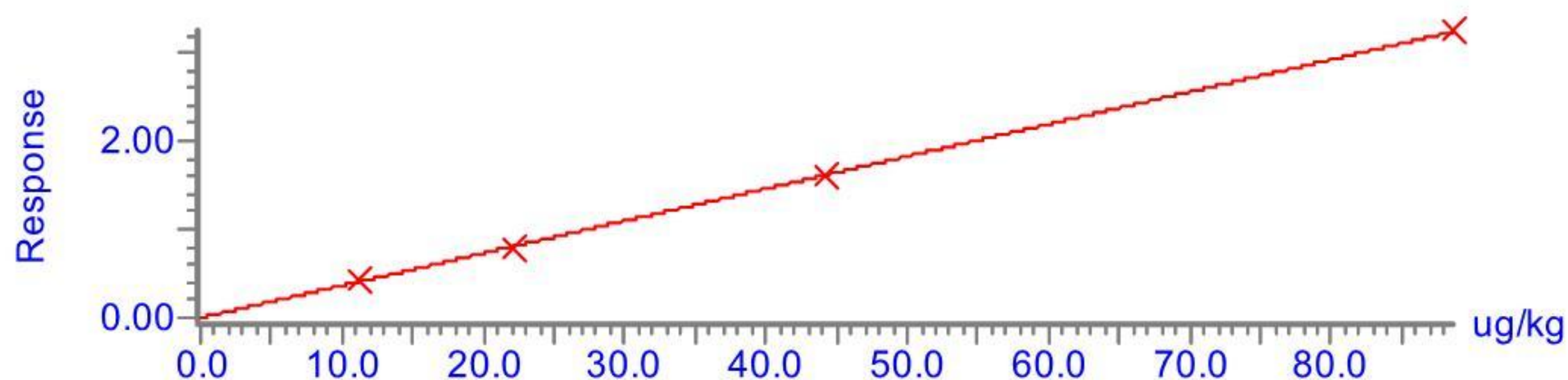


Gambar B.3 - Kromatogram klortetrasiklin pada contoh uji udang



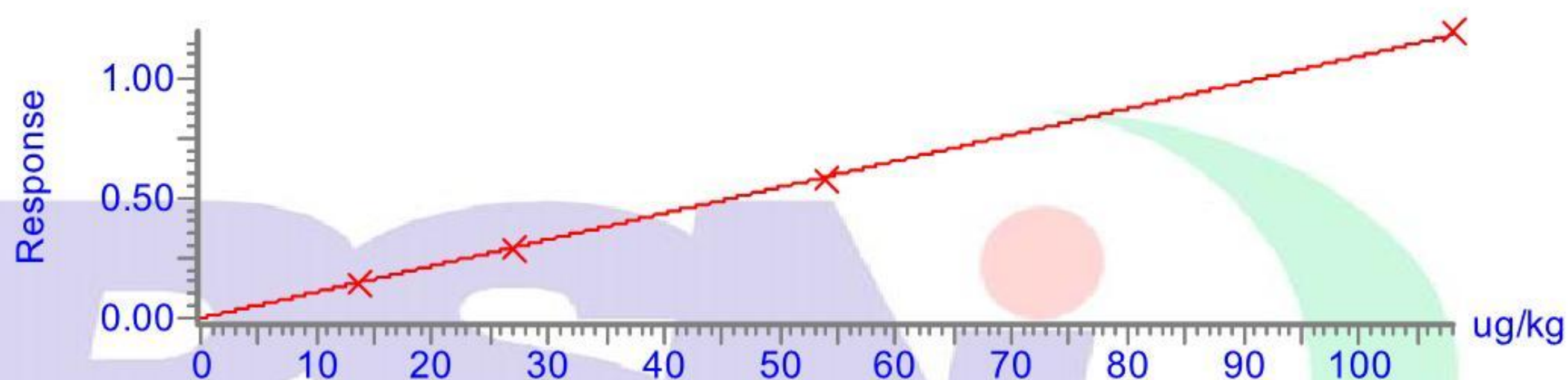
Gambar B.4 - Kromatogram demeklosiklin pada contoh uji udang

Compound name: Tetracycline
 Correlation coefficient: $r = 0.999759$, $r^2 = 0.999517$
 Calibration curve: $0.0365795 * x + -0.00264365$
 Response type: Internal Std (Ref 4), Area * (IS Conc. / IS Area)
 Curve type: Linear, Origin: Include, Weighting: $1/x$, Axis trans: None



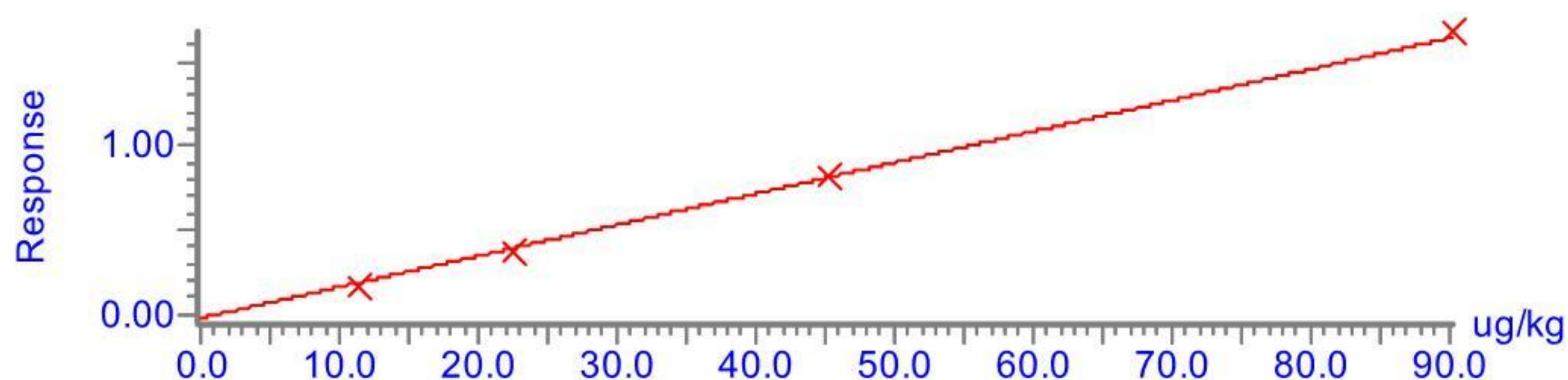
Gambar B.5 - Kurva Kalibrasi Tetrasiklin pada contoh uji

Compound name: Oxytetracycline
 Correlation coefficient: $r = 0.999790$, $r^2 = 0.999579$
 Calibration curve: $0.010973 * x + -0.00350865$
 Response type: Internal Std (Ref 4), Area * (IS Conc. / IS Area)
 Curve type: Linear, Origin: Include, Weighting: $1/x$, Axis trans: None



Gambar B.6 - Kurva Kalibrasi Oksitetrasiklin pada contoh uji

Compound name: Chlortetracycline
 Correlation coefficient: $r = 0.998594$, $r^2 = 0.997190$
 Calibration curve: $0.018471 * x + -0.0224072$
 Response type: Internal Std (Ref 4), Area * (IS Conc. / IS Area)
 Curve type: Linear, Origin: Include, Weighting: $1/x$, Axis trans: None



Gambar B.7 - Kurva Kalibrasi Klortetrasiklin pada contoh uji

Bibliografi

- Cháfer-Pericás, C., Á. Maquieira, R. Puchades, B. Company, J. Miralles, and A. Moreno. 2010. *Multiresidue determination of antibiotics in aquaculture fish samples by HPLC-MS/MS*. *Aquaculture Research*, 41, e217-e215.
- Cháfer-Pericás, C., Á. Maquieira, R. Puchades, J. Miralles, and A. Moreno. 2011. *Multiresidue determination of antibiotics in feed and fish samples for food safety evaluation. Comparison of immunoassay vs LC-MS-MS*. *Food Control*, 22, 993-999.
- Chico, J., A. Rúbies, F. Centrich, R. Companyó, M.D. Prat, and M. Granados. 2008. *High-throughput multiclass method for antibiotic residue analysis by liquid chromatography-tandem mass spectrometry*. *Journal of Chromatography A*, 1213, 189-199.
- Cronly, M., P. Behan, B. Foley, L. Regan, and M. Gallagher. 2010. *Development and Validation of a Rapid Multi-class Method for the Confirmation of Fourteen Prohibited Medicinal Additives in Pig and poultry Compound Feed by liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry*. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 53:929-938.
- Lehotay, Steven J., K. Mastovska, A. Amirav, A.B. Fialkov, T. Alon, P.A. Martos, A. de Kok, and A.R. Fernandez-Alba. 2008. *Identification and Confirmation of Chemical Residues in Food by Chromatography-Mass Spectrometry and Other Techniques*. *Trends in Analytical Chemistry*, Vol. 27, No. 11, 1070-1090.
- The Commission of the European Communities. *Comission Decision 2002/657/EC of 12 August 2002 on implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results*. *Official Journal of the European Communities*, L 221/8-L 221/36.